

HYDRAGEL 7 ß1-ß2

Ref. 4101

HYDRAGEL 15 ß1-ß2

Ref. 4121

HYDRAGEL 30 ß1-ß2

Ref. 4141

IVD

CE

2012/03

ESPECIFICACIONES DE USO

Los geles HYDRAGEL 7 ß1-ß2 y HYDRAGEL ß1-ß2 15/30 están diseóados para la separación de las proteínas del suero y orina humanas mediante electroforesis en geles de agarosa alcalinos (pH 8.6). Las proteínas del suero humano normal se separan en seis fracciones principales. Los kits se utilizan junto con el instrumento semiautomático HYDRASYS. Las proteínas separadas se tiñen con negro amido. Las separaciones electroforéticas son evaluadas visualmente para la detección de anormalidades en el patrón de migración. La densitometría proporciona una cuantificación relativa exacta de las fracciones individuales.

Cada gel de agarosa está diseñado para procesar :
- 7 muestras en el kit HYDRAGEL 7 ß1-ß2,
- 15 muestras en el kit HYDRAGEL 15 ß1-ß2,
- 30 muestras en el kit HYDRAGEL 30 ß1-ß2.

Para Uso Diagnóstico *In Vitro*.

NOTA : En estas instrucciones, el nombre "HYDRASYS" es usado para designar los sistemas semiautomáticos HYDRASYS e HYDRASYS 2, SEBIA.

PRINCIPIO DEL TEST[1-16]

La electroforesis de proteínas es una técnica arraigada que se utiliza rutinariamente en los laboratorios clÌnicos para investigar la presencia de anormalidades proteicas en el suero y en otros fluidos corporales. Está basada en los principios de la electroforesis de zona realizada en un medio de soporte adecuado. La agarosa se ha convertido en un medio de soporte versátil y efectivo. Para aplicaciones diagnósticas de rutina, las proteínas séricas se separan en cinco fracciones principales (por ejemplo, en los kits HYDRAGEL PROTEIN(E)). Cuando es necesaria una mayor resolución, las proteÌnas pueden separarse en seis fracciones principales utilizando los kits HYDRAGEL ß1-ß2 15/30: albúmina, alfa-1 globulinas, alfa-2 globulinas, beta-1 globulinas, beta-2 globulinas y gamma globulinas. Cada fracción contiene una o más proteínas séricas. Los patrones proteicos de la orina se parecen a los del suero. Sin embargo, las intensidades relativas de las fracciones o su presencia pueden variar enormemente en función de la capacidad de filtración del riñón.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS EN LOS KITS HYDRAGEL 7, 15 Y 30 ß1-ß2

ATENCIÓN : Ver las fichas de datos de seguridad.

ARTÍCULO	PN 4101	PN 4121	PN 4141
Geles de agarosa (listos para su uso)	10 geles	10 geles	10 geles
Esponjas tamponadas (listas para su uso)	10 bolsas de 2	10 bolsas de 2	10 bolsas de 2
Diluyente del colorante (solución stock)	1 frasco, 60 ml	1 frasco, 60 ml	1 frasco, 60 ml
Colorante Negro Amido (solución stock)	1 frasco, 20 ml	1 frasco, 20 ml	1 frasco, 20 ml
Aplicadores (listos para su uso)	1 caja de 10	1 caja de 10	2 cajas de 10
Papeles de filtro	1 bolsa de 10	1 bolsa de 10	1 bolsa de 10

PARA OBTENER RESULTADOS ÓPTIMOS :

Los elementos de un mismo kit deben utilizarse conjuntamente y según las instrucciones incluidas.

LEER ATENTAMENTE LAS INSTRUCCIONES.

1. GELES DE AGAROSA

Preparación

Los geles de agarosa están listos para usar. Cada gel contiene : agarosa ; tampón pH 8,6 ± 0,5 ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Medio de soporte para la electroforesis de proteínas.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar los geles horizontalmente en sus recipientes protectores originales a temperatura ambiente (15 a 30 °C) o refrigerados (2 a 8 °C). Son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit y en sus recipientes protectores. (La flecha situada en la cara frontal de la caja del kit debe apuntar hacia arriba). Evitar su almacenamiento cerca de una ventana o de una fuente de calor. Evitar variaciones importantes de temperatura durante su almacenamiento. NO CONGELAR.

Desechar cuando:

(i) haya cristales o precipitados en la superficie del gel o su textura sea muy blanda (consecuencias de la congelación del gel) ;
(ii) se observe crecimiento bacteriano o fúngico ;
(iii) se evidencie una cantidad excesiva de líquido en el recipiente del gel (consecuencia de la exudación del tampón debida a un almacenamiento inadecuado).

2. ESPONJAS TAMPONADAS

Preparación

Las esponjas tamponadas están listas para usar. Cada esponja tamponada contiene : tampón pH 8,5 ± 0,5 ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Las esponjas tamponadas funcionan como reservorio de tampón de electroforesis y aseguran el contacto entre el gel y los electrodos.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Las esponjas tamponadas pueden conservarse a temperatura ambiente o en la nevera.
Deben ser conservadas horizontalmente en su bolsa protectora (la flecha situada en la parte frontal del kit debe apuntar hacia arriba).
Son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en su bolsa protectora. NO LAS CONGELE.
Deseche las esponjas tamponadas si la bolsa está abierta o si las esponjas están secas.

3. DILUYENTE DEL COLORANTE

Preparación

El diluyente del colorante concentrado debe ser usado como se indica en el párrafo "COLORANTE NEGRO AMIDO". Contiene una solución ácida pH ≈ 2.

Uso

Para la preparación del colorante negro amido.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

El diluyente del colorante concentrado puede conservarse a temperatura ambiente o en la nevera. Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de diluyente. NO LO CONGELE.
No le añada azida sódica.

4. COLORANTE NEGRO AMIDO

Preparación

El colorante negro amido concentrado es una solución viscosa que puede gelificarse, lo que no afecta de ningún modo a la calidad de la solución final y su capacidad de coloración.
Para obtener una perfecta reconstitución del colorante, siempre hay que prepararlo como se indica a continuación :

1. Añada unos 15 mL de diluyente del colorante en el vial de negro amido concentrado.
2. Cierre el vial con cuidado.
3. Agite el vial intensamente durante un mínimo de 5 segundos.
4. Vierta la solución obtenida en el recipiente de preparación de la solución de coloración.
5. Repita esta operación dos veces, o tres veces si es necesario.
6. Vierta el resto de diluyente en el recipiente de preparación de la solución de coloración.
7. Complete hasta 300 mL con agua destilada o desionizada.
8. Agite esta solución de 5 a 10 minutos.

El colorante está listo para usar.

NOTA : Una reconstitución incompleta del colorante puede implicar una mala coloración de la fracción albúmina (disminución de su porcentaje o aparición de un agujero blanco en el centro de la fracción).

Después de la dilución, la solución colorante contiene : solución ácida pH ≈ 2 ; negro amido ; etilén-glicol ; componentes inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso

Para la coloración de los geles después de la separación electroforética de las proteínas.

IMPORTANTE: El colorante está destinado para colorear sólo 10 geles. Cambie el colorante después de 10 usos.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Las soluciones de colorante concentrada y diluida pueden conservarse a temperatura ambiente o en la nevera, en contenedores cerrados para evitar la evaporación. La solución concentrada es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de colorante.
La solución diluida es estable durante 1 mes. El período de estabilidad puede prolongarse a 3 meses si la solución diluida se conserva en nevera. Es imperativo colocar el contenedor cerrado en nevera inmediatamente después de cada uso.
No almacene la solución de colorante diluida cerca de una fuente de calor.

5. APLICADORES

Uso

Aplicadores precortados de un solo uso para la aplicación de la muestra.

Almacenamiento

Almacenar los aplicadores en un lugar seco a temperatura ambiente o refrigerados.

6. PAPELES DE FILTRO

Uso

Papeles finos absorbentes precortados, de un solo uso, para secar el exceso de humedad de la superficie del gel antes de la aplicación de la muestra.

Conservación

Conserve los papeles de filtro finos en un lugar seco a temperatura ambiente o en nevera.

REACTIVOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

ATENCIÓN : Ver las fichas de datos de seguridad.

1. SOLUCIÓN DECOLORANTE

Preparación

Cada vial de Solución Decolorante stock (SEBIA, PN 4540, 10 viales de 100 ml) se diluye hasta 100 litros con agua destilada o desionizada. Es conveniente diluir sólo 5 ml de la solución stock hasta 5 litros, volumen del contenedor de la solución decolorante.
Después de la dilución, la solución decolorante contiene una solución ácida pH ≈ 2.

Uso

Para la destinción, ésto es, la eliminación del exceso de tinción y la coloración de fondo de los geles.
Para el lavado del compartimento de coloración.
Para neutralizar la acidez del decolorante, introduzca dentro del contenedor de desechos vacío 15 ml de sosa al 50 % (solución comercial).

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar la solución decolorante stock a temperatura ambiente o refrigerada. La solución stock de decolorante es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit o en las etiquetas del vial. NO CONGELAR. La solución decolorante de trabajo es estable una semana a temperatura ambiente en un contenedor cerrado. No añadir azida sódica.

Desechar la solución decolorante de trabajo si cambia su apariencia, p. ej., si se vuelve turbia debido a contaminación microbiana.

Para evitar la proliferación microbiana en la solución decolorante diluida que se vaya a almacenar durante más de una semana, añada 5 µL/dL de ProClin 300.

El decolorante diluido al que se ha añadido ProClin es estable en un contenedor cerrado a temperatura ambiente o en la nevera hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de decolorante.

2. SOLUCIÓN DE LAVADO HYDRASYS

Preparación

Cada vial de la Solución stock de lavado HYDRASYS (SEBIA, PN 4541, 10 viales, 80 ml cada uno) se diluye hasta 5 litros con agua destilada o desionizada.

Después de la dilución, la solución de lavado contiene : tampón pH 8,7 ± 0,5.

Uso

Sirve para limpiar el Compartimento de Tinción del HYDRASYS. Usar periódicamente, p. ej., si el instrumento se usa a diario, lavar el compartimento de tinción semanalmente.

Ver la hoja de instrucciones para las indicaciones de uso.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar ambas soluciones de lavado, stock y de trabajo, a temperatura ambiente o refrigeradas en contenedores cerrados. La solución stock de lavado es estable hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del vial.

Desechar la solución de trabajo de lavado si cambia su apariencia, p. ej., si se vuelve turbia debido a contaminación microbiana.

3. FLUIDIL

Preparación

El Fluidil (SEBIA, PN 4587, 5 ml) está listo para su uso.

Uso

Para la dilución de las muestras que no difunden bien en los dientes del aplicador (por ejemplo, muestras viscosas o turbias cuya turbidez es debida a la presencia de una crioglobulina o un criogel, muestras con Ig M polimerizada,…), o que presentan un perfil electroforético de baja intensidad.

Almacenamiento, estabilidad y señales de deterioro

Almacenar a temperatura ambiente. Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del vial de Fluidil.

El Fluidil debe estar exento de precipitados.

NOTAS :

Las pruebas realizadas durante la validación de los reactivos muestran que, para las diferentes soluciones y usando material adaptado al volumen a reconstituir, una variación del volumen final de un ± 5 % no tiene ningún efecto adverso en el análisis.

El agua destilada o desionizada, usada para la reconstitución de las soluciones, debe estar exenta de contaminación bacteriana o fúngica (use un filtro de 0,22 µm) y debe tener una resistividad superior a 10 Megohms x cm.

EQUIPAMIENTO Y ACCESORIOS NECESARIOS

1. Sistema HYDRASYS SEBIA : HYDRASYS 2 SCAN PN 1200, HYDRASYS 2 PN 1201, HYDRASYS 2 SCAN FOCUSING PN 1202, HYDRASYS 2 FOCUSING PN 1203, HYDRASYS PN 1210 o PN 1211 o HYDRASYS FOCUSING PN 1212.
2. Micropipeteador, manual o automatico, como el HYDRAPLUS SEBIA, PN 1216, HYDRAPLUS 2 SEBIA, PN 1217 o ASSIST SEBIA, PN 1218, para cargar los aplicadores de muestra de una forma alternativa.
3. Cámara húmeda, PN 1270, suministrada con el HYDRASYS.
4. Kit de Contenedores suministrado con el HYDRASYS.
5. Pipetas: 10 µl y 200 µl.
6. Densitómetro / escáner capaz de leer geles de 82 x 51 mm ó 82 x 102 mm : HYRYS SEBIA, GELSCAN SEBIA, DVSE SEBIA o escáner equipado con el programa PHORESIS SEBIA. Consultar las instrucciones de cada aparato para obtener los procedimientos de utilización y calibración.
7. Soporte del Gel para medios geles SEBIA, PN 1278.

MUESTRAS PARA ANALISIS

Extracción y almacenamiento de las muestras

Se recomienda analizar muestras frescas. El suero y la orina deben obtenerse de acuerdo con los procedimientos establecidos de uso en los laboratorios clínicos. Refrigere las muestras (2 a 8 °C) tan pronto como sea posible después de su obtención, durante una semana. (NOTA: la fracción beta-2, el complemento C3, desaparece al cabo de 3 días). Para períodos de almacenamiento más prolongados, almacene las muestras congeladas (son estables durante un mes al menos).

Congelar los sueros con azida sódica, 0.2 g/l, mejora la estabilidad del almacenaje.

Congelar orina con HEPES 0.1 M (pH 6.75) y azida sódica, 0.2 g/l, mejora la estabilidad del almacenaje.

IMPORTANTE: No utilizar ácido bórico como conservante.

Las muestras descongeladas pueden dar lugar a ligeras marcas de aplicación debidas a la desnaturalización de proteínas o lipoproteínas. El almacenamiento entre 2 y 8 °C y la congelación causan un desplazamiento anódico de las beta-lipoproteínas del suero, desde la fracción beta-1 hasta las fracciones alfa-2 o alfa-1 ; cuanto más antiguo sea el suero mayor será el desplazamiento.

Preparación de las muestras

1. *Suero*

   Use muestras de suero no diluidas.

   Tratamiento de los sueros con Fluidil:

   El tratamiento de los sueros con Fluidil debe ser aplicado en los casos siguientes:
   - Sueros que no difunden bien en los dientes del aplicador, por ejemplo, sueros viscosos o turbios tras la conservación en nevera (entre 2 y 8 °C) o la congelación (en particular, aquellos que contiene una crioglobulina o un criogel).
   - Sueros con una Ig M polimerizada.
   - Sueros con un perfil electroforético de baja intensidad.

   Trate previamente estos sueros con el Fluidil: añada 25 µL de Fluidil a 75 µL de suero, agite 15 segundos en el vortex y luego siga con el procedimiento habitual.

2. *Orinas concentradas*

   El análisis se lleva a cabo con orinas concentradas hasta 15 - 20 g/l (con un mecanismo adaptado).

   IMPORTANTE: Algunas orinas presentan un alto contenido de sales. Esto puede provocar que el gel se deforme durante la migración y, por lo tanto, distorsión de los perfiles electroforéticos. Para evitar este problema es necesario eliminar las sales con una diálisis.
   En caso de orinas turbias (concentradas o no), se recomienda eliminar las partículas, centrifugando las muestras (durante 10 minutos a 3000 rpm) o por filtración (en un filtro de 0,45 µm) para obtener una buena difusión en los aplicadores.

Muestras a descartar

- No utilice muestras de suero hemolizadas. La hemólisis incrementa las fracciones alfa-2 y beta.
- No utilice muestras de plasma. El fibrinógeno da lugar a una banda cerca del punto de aplicación que puede ser confundida con una inmunoglobulina monoclonal y afectaría al porcentaje de la fracción beta correspondiente.
- No utilice muestras de orina muy antiguas o almacenadas incorrectamente en las que pueda haber tenido lugar degradación enzimática de las proteínas.

PROCEDIMIENTO

El sistema HYDRASYS es un instrumento semiautomático multiparamétrico. Las etapas automáticas incluyen el procesado de los geles de agarosa HYDRAGEL en la siguiente secuencia: aplicación de la muestra, migración electroforética, secado, tinción, destinción y secado final. Las etapas manuales incluyen el manejo de las muestras y los geles, y la puesta en marcha del instrumento para la operación.
LEER CUIDADOSAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL HYDRASYS / HYDRASYS 2.

I. PUESTA EN MARCHA DE LA MIGRACIÓN

1. Encender el HYDRASYS.
2. Colocar un aplicador para el HYDRAGEL 7 ß1-ß2 (7 muestras) y HYDRAGEL ß1-ß2 15/30 (15 muestras), o dos aplicadores para el HYDRAGEL ß1-ß2 15/30 (30 muestras), en una superficie plana con los números de los pocillos en la cara superior (Fig. 1).
   - Aplique 10 µl de muestra de suero sin diluir o de orina concentrada en cada pocillo. Cargar cada aplicador en el plazo máximo de 2 minutos.
   - Colocar el(los) aplicador(es) en la cámara húmeda con el peine hacia arriba [asirlos por el plástico protector del peine]. Dejar difundir las muestras a través de los papeles del peine durante 5 minutos, después de la aplicación de la última muestra. Para uso posterior (hasta 8 horas), guardar todo el conjunto en refrigeración.

   Ver la hoja de instrucciones de la cámara húmeda para más detalles.
3. Abrir la puerta del Módulo de migración y elevar los soportes de los electrodos y el aplicador.

   ATENCIÓN: ¡Nunca cerrar la puerta cuando los soportes están elevados!
4. Seleccionar el programa de migración "7 B1-B2" para el HYDRAGEL 7 ß1-ß2, o el programa de migración "15/30 B1-B2" para el HYDRAGEL ß1-ß2 15/30 en el menú del instrumento (mitad izquierda del teclado).
5. Sacar las esponjas tamponadas de su envoltorio ; asirlas por los extremos de plástico. Engarzar los extremos de plástico agujereados con las puntas metálicas del soporte de los electrodos ; los extremos de plástico deben quedar encarados al soporte (Fig. 2).
6. Abrir el contenedor del HYDRAGEL.
   - Extienda un papel de filtro fino de manera rápida y uniforme sobre la superficie del gel para absorber el exceso de líquido. Retire el papel inmediatamente.

   ADVERTENCIA: No deje que el papel de filtro contacte demasiado rato con el gel para evitar que se deshidrate.
   - Dispensar 120 µl de agua destilada o desionizada para el HYDRAGEL 7 ß1-ß2, ó 200 µl para el HYDRAGEL ß1-ß2 15/30, en el tercio inferior del marco serigrafiado en la Superficie de Control de Temperatura del módulo de migración.
   - Colocar el gel (la cara de agarosa hacia arriba) con su lado inferior en contacto con el tope inferior del marco serigrafiado (Fig. 3).
   - Aplicar el gel en la superficie, haciéndolo contactar con el agua (Fig. 3). Asegurarse que no queden burbujas, que el agua esté extendida bajo toda la superficie del gel y que éste esté alineado con el marco serigrafiado.
7. Devolver ambos soportes a su posición original. Las esponjas tamponadas no deben tocar el gel. NO FORZAR LOS SOPORTES HACIA ABAJO.
8. Extraer el(los) aplicador(es) de la cámara húmeda. Asirlo(s) por el plástico protector.
   - Romper el plástico protector precortado del peine.
   - Con 7 y 15 muestras colocar el aplicador en la posición No 6 del soporte.
   - Con 30 muestras colocar los dos aplicadores en las posiciones No 3 y 9.

   IMPORTANTE: Los números impresos en el(los) aplicador(es) deben quedar de cara al usuario (Fig. 4).
9. Cerrar la puerta del módulo de migración.
10. Iniciar el procedimiento inmediatamente, presionando la tecla "START" (flecha verde)en el lado izquierdo del teclado.

    IMPORTANTE: Asegurarse que la toma de aire en el lado derecho del instrumento no está bloqueada.

MIGRACIÓN - DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

- Los dos soportes descienden, con lo cual esponjas tamponadas y aplicador(es) entran en contacto con la superficie del gel.
- El soporte del aplicador se eleva.
- La migración se realiza a una corriente constante de 10 W en el caso del HYDRAGEL 7 ß1-ß2 ó 20 W en el caso de HYDRAGEL ß1-ß2 15/30, a una temperatura controlada por efecto Peltier de 20 °C, con un acumulado de 36 Vh (para 7 minutos).
- El soporte de los electrodos se eleva para desconectar los electrodos.
- La temperatura de la Superficie de Control de Temperatura se eleva a 65 °C durante 10 minutos para el secado de el gel.
- La Superficie de Control de Temperatura se enfría ; cuando alcanza los 50 °C, un pitido audible indica que la puerta del módulo de migración queda desbloqueada. La temperatura permanece a 50 °C hasta que se abre la puerta. Luego, la temperatura desciende hasta 20 °C (en menos de 5 minutos) después de lo cual puede iniciarse una nueva migración.

NOTA: La puerta del módulo de migración permanece bloqueada durante todas las etapas de la migración.

II. PUESTA EN MARCHA DEL PROCESADO DEL GEL

1. Abrir la puerta del módulo de migración.
2. Extraer el(los) aplicador(es) y desechar.
3. Elevar ambos soportes, extraer las esponjas tamponadas por sus extremos de plástico y desechar.
4. Extraer el gel seco para el procesamiento posterior.
5. Después de cada uso, limpiar los electrodos y la Superficie de Control de Temperatura con un paño suave humedecido.
6. Extraer el Soporte del Gel. Dejarlo en una superficie plana y encajar el gel seco (con la superficie de agarosa de cara arriba) en las muescas de los dos cilindros. Cerrar el Soporte del Gel. Asegurarse que el gel está posicionado correctamente en su soporte (Fig. 5).
7. Colocar el soporte del gel en el Módulo de Tinción y Procesamiento.

   IMPORTANTE: Antes de iniciar el programa de tinción y procesamiento del gel, controlar:
   - el contenedor de colorante tiene 300 ml de solución de tinción ;
   - el contenedor de decolorante tiene al menos 1 litro de solución decolorante ;
   - el contenedor de desechos está vacío.

   Para la conexión de los reactivos : consultar la información mostrada en la pantalla del instrumento (seleccionar la tecla : VER CANALES).

   IMPORTANTE: No olvidar bloquear los canales no utilizados.
8. Seleccionar el programa de tinción "PROTEIN(E)/B1-B2" en el menú del instrumento e iniciar el ciclo presionando la tecla "START" (flecha verde de la parte derecha del teclado).

   Durante todas las secuencias de coloración, decoloración y secado, el sistema permanece bloqueado.
   Después del enfriamiento de la cubeta, una señal sonora (bip) suena y el sistema se desbloquea (la ventilación se mantiene hasta la recuperación del porta-films).

III. FINALIZACIÓN DEL PROCESADO DEL GEL

1. Extraer el Soporte del Gel de su compartimento, abrirlo y extraer el gel seco.

   NOTA: Si se observan manchas azules residuales en los geles después de la coloración / decoloración, una etapa de lavado suplementario con el programa "LAV. ISOENZ/GEL" / "LAVADO ISOENZ/GEL" permite eliminarlas o atenuarlas (según su intensidad) antes de su lectura en densitómetro o escáner.
2. Si es necesario, limpiar la superficie trasera (la cara del soporte plástico) del gel seco con un paño suave humedecido.
3. Lea el gel con un densitómetro / escáner seleccionando el programa de lectura apropiado.

   NOTA: En los geles con varias filas de muestras (2 ó 3), las longitudes de migración pueden ser ligeramente diferentes, sin ninguna repercusión en los resultados.

RESULTADOS

Control de calidad

Se aconseja incluir un suero control (Suero Control, SEBIA PN 4785) en cada análisis de muestras.

Valores

La lectura del gel mediante densitometría permite definir las concentraciones relativas (porcentajes) de cada fracción.

Los valores normales (media ± 2 SD) para las fracciones proteicas electroforéticas principales en los geles HYDRAGEL ß1-ß2 15/30 en el sistema HYDRASYS han sido establecidos a partir de una población sana de 136 adultos (hombres y mujeres).
La cuantificación de las proteínas en UV en el CAPILLARYS proporciona valores similares a los de la nefelometría (en especial para la albúmina). SEBIA propone una estandarización de los valores obtenidos en HYDRAGEL realizando una calibración de los sistemas de lectura.

	Valores sin estandarización	**Valores estandarizados en el CAPILLARYS**
FRACCIÓN	**HYRYS - GELSCAN - DVSE - PHORESIS**	**HYRYS - GELSCAN - DVSE - PHORESIS**
Albúmina	60.3 - 72.8 %	54.3 - 65.5 %
Alfa-1 globulinas	1.0 - 2.6 %	1.2 - 3.3 %
Alfa-2 globulinas	7.2 - 11.8 %	8.3 - 15.0 %
Beta-1 globulinas	5.6 - 9.1 %	6.5 - 11.5 %
Beta-2 globulinas	2.2 - 5.7 %	2.5 - 7.2 %
Gamma globulinas	6.2 - 15.4 %	7.1 - 19.5 %

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de normalidad.

Interpretación[1-16]

En algunas muestras de suero, la fracción alfa-2 puede presentar un ligero desdoblamiento que depende de la concentración y la movilidad de sus componentes proteicos, consulte el PATRÓN DE MIGRACIÓN.

- Algunos sueros tienen fenotipos diferentes de Haptoglobina o de Globulina GC.
- La posición de la lipoproteína alfa-1 depende de su concentración y de la conservación de la muestra.

En ciertas muestras, una banda fina más o menos focalizada, correspondiente a una parte del complemento C3 puede observarse en la zona Beta 2, ver PATRÓN DE MIGRACIÓN.
Para consultas sobre la interpretación de las separaciones electroforéticas de proteínas séricas y urinarias, vea la BIBLIOGRAFÍA.

Interferencias y Limitaciones

Las lipoproteínas LDL y HDL son moléculas complejas con una movilidad electroforética natural muy variable desde la zona beta a la zona alfa-2.
Para evitar dificultades de integración e interpretación, los geles HYDRAGEL tienen una composición particular que coloca generalmente las HDL en la zona alfa-2 y las LDL en la zona beta.

Sin embargo, esta migración es muy sensible a los siguientes factores:

- tiempo de almacenamiento de la muestra,
- concentración de lipoproteínas,
- tratamientos con medicamentos (por ejemplo con heparina),
- estado de hidratación del gel (conservación del gel),
- variaciones, incluso muy leves, de las materias primas.

Por estas razones, puede observarse un ligero desplazamiento anódico de estas lipoproteínas, que se vuelven más aparentes o que implica un ensanchamiento de la fracción, incluso un desdoblamiento de la zona alfa-2 y / o de la zona beta.

1) Los porcentajes de las fracciones alfa-2 y beta permanecen inalterados a pesar del leve desdoblamiento debido a la variación de la movilidad electroforética.
2) La forma característica de la fracción de beta-lipoproteína (con una focalización importante y una forma irregular) no puede en ningún caso provocar un error de interpretación, sólo cambia su aspecto.

Vea **MUESTRAS PARA ANILISIS**.
Teniendo en cuenta los principios analíticos de las técnicas actuales (principios de la electroforesis de zona, resolución y sensibilidad), no puede darse ninguna garantía respecto a la detección de la totalidad de todos los componente monoclonales.

Resolución de problemas

Lamar al Servicio de Asistencia Técnica del distribuidor cuando falle el funcionamiento de la prueba pese a haber seguido cuidadosamente las instrucciones para la preparación y conservación de los materiales y para el procedimiento de la técnica.
Las hojas de seguridad de los diferentes reactivos del kit, así como las informaciones relativas a la eliminación de los desechos, están disponibles en el Servicio de Asistencia Técnica de su distribuidor.

CARACTERISTICAS TECNICAS

Todas la densitometría se realizó utilizando el densitómetro HYRYS, con el filtro amarillo.

Reproducibilidad Intra-geles

Tres (3) muestras de suero diferentes fueron analizadas cada una en 28 pistas de un gel HYDRAGEL ß1-ß2 15/30 de cada uno de los dos lotes controlados. Se calcularon las medias, DS y CV (n = 28) para cada muestra, cada zona y cada gel/lote. La tabla muestra los valores correspondientes a la muestra A obtenidos a partir de los dos geles/lotes controlados. Se obtuvieron resultados similares para las muestras B y C.

FRACCIÓN	MEDIA (%)	DS	CV (%)
Albúmina	50.8 ; 51.5	0.8 ; 1.3	1.6 ; 2.5
Alfa 1	2.9 ; 2.9	0.1 ; 0.1	3.2 ; 3.7
Alfa 2	8.8 ; 8.7	0.1 ; 0.2	1.2 ; 2.8
Beta 1	8.6 ; 8.2	0.3 ; 0.2	4.0 ; 2.2
Beta 2	5.3 ; 5.4	0.2 ; 0.5	4.4 ; 8.5
Gamma	24.1 ; 23.3	0.4 ; 0.6	1.7 ; 2.4

Reproducibilidad Inter-geles e Inter-análisis

Quince (15) muestras de suero diferentes fueron analizadas en un gel, cada uno de dos lotes de geles HYDRAGEL ß1-ß2 15/30, durante cinco días consecutivos. Cada muestra fue aplicada en dos pistas de cada gel (filas superior e inferior). Se calcularon las medias, DS y CV diarios y totales para cada muestra y fracción. Los resultados fueron esencialmente los mismos para todas las muestras y para ambos lotes. El ejemplo siguiente muestra los rangos de DS y CV calculados para muestras individuales durante el período de 5 días y el CV medio calculado a partir de los CV agrupados de todas las muestras y días y un lote (n = 150).

FRACCIÓN	DS	CV (%)	CV MEDIO (%)
Albúmina	0.3 ; 2.1	0.5 ; 3.2	1.4
Alfa 1	0.1 ; 0.2	3.3 ; 10.2	4.8
Alfa 2	0.1 ; 0.3	1.2 ; 6.0	2.8
Beta 1	0.1 ; 0.7	2.7 ; 8.2	4.3
Beta 2	0.2 ; 0.7	6.1 ; 17.8	11.0
Gamma	0.5 ; 1.1	2.9 ; 9.6	5.2

Exactitud

Se analizaron muestras de suero patológicas y normales (n = 112) en geles HYDRAGEL ß1-ß2 15/30 y en geles HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30. Los parámetros de correlación calculados para fracciones individuales a partir del conjunto de datos de los geles HYDRAGEL PROTEIN(E) 15/30 respecto a los sistemas de geles comparados (y = HYDRAGEL ß1-ß2 15/30) fueron:

Fracción	**Coeficiente de correlación**	**Punto de corte en y**	**Pendiente**	**Rango de Valores en %** *(HYDRAGEL ß1-ß2 15/30)*
Albúmina	0.989	0.318	1.010	36.1 - 70.8
Alfa 1	0.967	0.009	0.952	1.0 - 10.4
Alfa 2	0.981	0.002	0.985	5.6 - 22.9
Beta 1 – Beta 2	0.950	0.475	0.950	9.5 - 22.3
Gamma	0.988	0.134	0.988	5.1 - 28.1

Sensibilidad

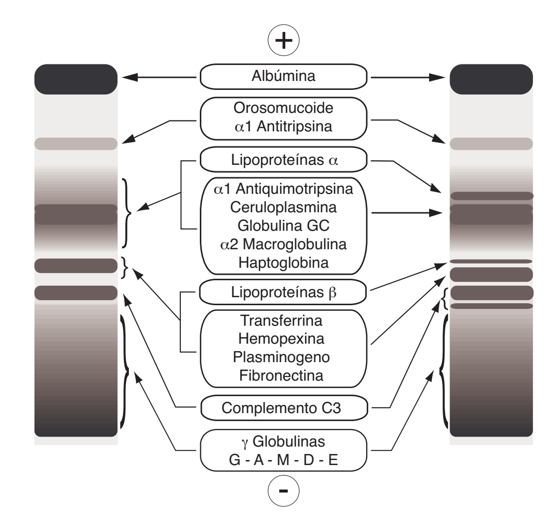
Se sometieron a electroforesis en geles HYDRAGEL ß1-ß2 15/30 diluciones seriadas de dos muestras de suero, cada una con una proteína monoclonal. La mayor dilución con una banda monoclonal discernible correspondía a 0.44 y 0.21 g/l de la proteína monoclonal, para las dos muestras respectivamente.

NOTA: El límite de detección puede variar en función de la posición de la banda monoclonal y el fondo policlonal de la fracción de las gammaglobulinas.

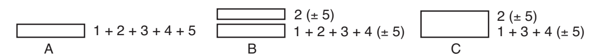
Análisis de orinas concentradas

Los resultados obtenidos con los geles HYDRAGEL ß1-ß2 15/30 indican una muy buena reproducibilidad intra e interseriales para muestras de orina concentradas después de un análisis cuantitativo y cualitativo. Veintiocho (28) muestras diferentes (orinas patológicas y normales) fueron analizadas en geles HYDRAGEL ß1-ß2 15/30 y en otro sistema comercial de geles de agarosa. No hubo diferencias detectables visualmente entre los dos sistemas. La sensibilidad de detección se determinó a partir de la mayor dilución serial de una proteína monoclonal urinaria, que proporcionó una banda distinguible a 0.024 g/dL.

PATRÓN DE MIGRACIÓN



Detalle de la fracción alfa-2



1 = α2 Macroglobulina
2 = Haptoglobina
3 = Ceruloplasmina
4 = Globulina GC
5 = Lipoproteínas α1

BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAPHY

1. Brouet J.C. Les cryoglobulinémies. *La Presse Médicale*, 1983, 12, p. 2991 à 2996.
2. Brouet J.C. Orientation diagnostiquée en cas d'anomalies des immunoglobulines plasmatiques (Ig E exclues). *La Revue du Praticien*, n° 9, 21/03/91, p. 782 à 785.
3. Garnier J.P., Laurent D., Clauvel J.P., Danon F., Bousquet B., Dreux C. Dosages des protéines sériques : cause d'erreur en cas d'immunoglobuline monoclonale. *Act. Pharm. Biol. Clin.*, 1987, 4, p. 275 à 278.
4. Guinan J.E.C., Kenny D.F., Gatengy P.A. Detection and typing of paraproteins : comparison of different methods in a routine diagnostic laboratory. *Pathology*, 1989, 21, p. 35 à 41.
5. Keren D.F., "High Resolution Electrophoresis and Immunofixation Techniques and Interpretation", Butterworth-Heinemann, Woburn, MA, USA, 2nd ed., 1994, 397 pp.
6. Le Carrer D. Gammapathies monoclonales : mise au point sur leur exploration biochimique en 1991 - Première partie : Les techniques de diagnostic protéinologique, principes et limites. *L'Eurobiologiste*, 1991, Tome XXV, n° 194, p. 203 à 212.
7. Le Carrer D. Gammapathies monoclonales : mise au point sur leur exploration biochimique en 1991 - Seconde partie : Diagnostic protéinologique du myélome, de la maladie de Waldenström et des autres gammapathies monoclonales. *L'Eurobiologiste*, 1991, Tome XXV, n° 195, p. 283 à 285.
8. Le Carrer D. Intérêt du profil protéique, cible immunitaire en biologie clinique. *Revue Française des Laboratoires*, 1993.
9. Le Carrer D. Électrophorèse et Immunofixation des Protéines Sériques, Interprétations illustrées. Laboratoires SEBIA, 1994, 120 pp.
10. Le Carrer D. L'interprétation de l'électrophorèse des protéines. *L'Eurobiologiste*, 1989 - Tome XXIII, n° 182, p. 27 à 33.
11. North M.L. Détection et caractérisation d'une immunoglobuline monoclonale. *Revue Française des Laboratoires*, Mars 1990, n° 203, p. 54 à 58.
12. Peltre G. Électrophorèse, les trois principes de base. *Technique et Biologie*, 1990, 1, p. 16 à 23.
13. Sicard D. Du bon usage de l'électrophorèse des protéines. *Le Concours Médical*, 05.05.90, 1990, 112, 16, p. 1513 à 1515.
14. Van Den Abelle. Électrophorèse des protéines sériques. Intérêt, limites, apport du profil protéique. *Larc Medical*, 1987, n° 7, Vol VI, p. 348 à 351.
15. Wicher J.T., Spence C.E. Serum protein electrophoresis - An out moded test. *Ann. Clin. Biochem.*, 1987, 24, p. 133 à 139.
16. Wendling A. Procédures de diagnostic ou de dépistage : justification et validité d'un test de diagnostic ou de dépistage-sensibilité-spécificité. *Impact-Internat*, Septembre 1986.

SCHÉMAS / FIGURES

Figure 1

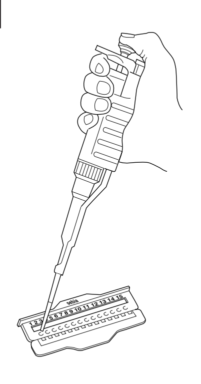


Figure 2

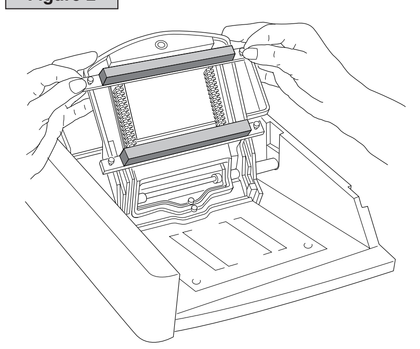


Figure 3

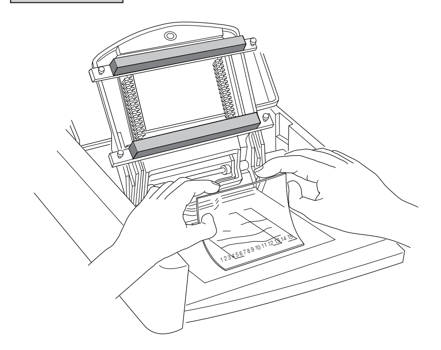


Figure 4

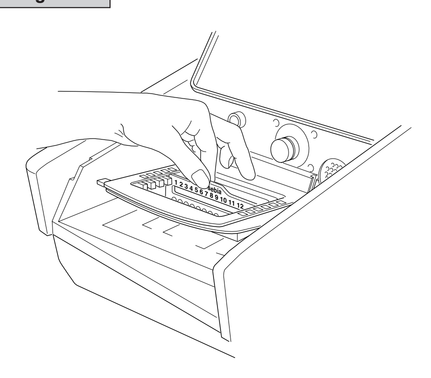
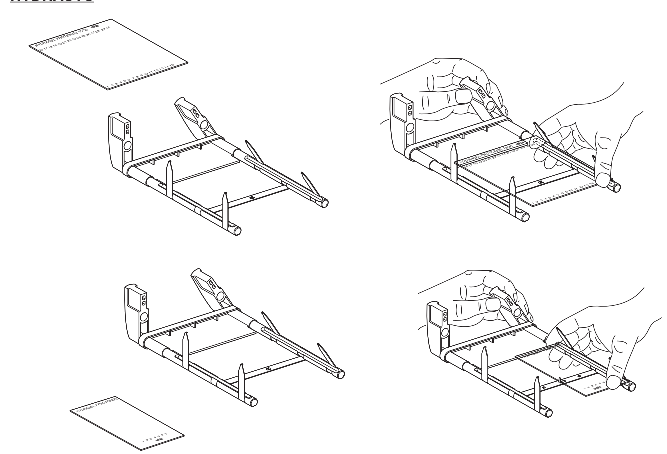


Figure 5

HYDRASYS



SCHÉMAS / FIGURES

HYDRASYS 2

